

تأثیر توأم پیوند غیر اتو لوگ سلول های بنیادی استخراج شده از چربی و فاکتور رشد عصبی بر ترمیم عصب سیاتیک لهشده در موش صحرایی

آزاده تاجیک^۱, مهناز آذرنیا^۲, غلامرضا کاکا^۳, سید همایون صدرایی^۴, عمید خطیبی اقدا^۵

چکیده

زمینه و هدف: از آنجایی که سلول های بنیادی برگرفته شده از بافت چربی، در دسترس و آسان می باشند، در در این بررسی، تأثیر پیوند سلول های بنیادی مشتق شده از چربی (ADSc) و هورمون رشد عصب (NGF)، بر شاخص عمل عصب در موش صحرایی دارای لهشگی عصب سیاتیک، از طریق بررسی رفتار و الکترووفیزیولوژی در روند ترمیم، ارزیابی شد.

روشن تحقیق: در این تحقیق، از ۲۸ سر موش صحرایی نر بالغ استفاده شد که پس از لهکدن عصب سیاتیک، در ۴ گروه شامل: گروه رت های سالم، گروه رت های شاهد فقط تحت آسیب عصبی، گروه رت های آسیب دیده تحت درمان با NGF و گروه رت های آسیب دیده تحت درمان با ADSc و NGF قرار گرفتند. میزان بهبودی توسط آزمون حسی شاخص فعالیت عصب سیاتیک (SFI)، دامنه پتانسیل فعالیت حرکتی (AMP) و سرعت هدایت پیام عصبی (NGV) ارزیابی گردید.

یافته ها: میزان تأخیر بهبود حسی، ۲ هفته پس از ترمیم، در گروه NGF نسبت به گروه سالم افزایش معنی داری داشت ($P<0.01$)، اما در گروه سلول درمانی، بهبودی کاملاً مشخصی دیده شد. میانگین SFI در پایان هفته ششم، در گروه سلول درمانی و NGF نسبت به گروه شاهد افزایش داشت، اما معنی دار نبود. میانگین NCV و AMP در گروه های درمانی به خصوص گروه سلول درمانی نسبت به گروه شاهد، افزایش غیر معنی داری داشت.

نتیجه گیری: پیوند ASDc به همراه تجویز NGF موضعی، می تواند یک رویکرد درمانی برای ترمیم جراحت عصبی مناسب محسوب شود و NGF نیز اثر مشتی بر ترمیم عصب سیاتیک دارد.

واژه های کلیدی: سلول های بنیادی مشتق از چربی؛ عامل رشد عصب؛ ترمیم عصب

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرونی. ۱۳۹۲؛ ۲۰(۴):۳۵۷-۳۶۵.

دریافت: ۱۳۹۲/۰۲/۱۸ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۲/۰۹

^۱ کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران.

^۲ دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.

^۳ نویسنده مسؤول، استادیار، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...، تهران، ایران.

آدرس: تهران- اقدسیه- میدان اراج- دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...

تلفن: ۰۲۱۲۲۸۹۹۴۱- نامبر: ۰۶۱۲۷۲۸۶ پست الکترونیکی: Zhiwantejarat@yahoo.com

^۴ دانشیار، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، گروه آناتومی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...، تهران، ایران.

^۵ استادیار، گروه طب فیزیکی و توانبخشی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...، تهران، ایران.

مقدمه

پیامدهای آسیب‌های عصبی، رضایت‌بخش نبوده و موجب معلولیت‌های طولانی مدت می‌شود. عدم کارکرد حسی و حرکتی که با درد و ناراحتی همراه است، نه تنها پیامدهای کاربردی دارد، بلکه از تأثیرات فیزیولوژیکی و اجتماعی مهمی نیز برخوردار است (۱).

روش‌های مختلف درمانی در ترمیم اعصاب محیطی استفاده شده است، اما هنوز ۵۰٪ این ضایعات، برای همیشه باقی مانده و معلولیت بجا می‌گذارند (۲).

سلول‌های بنیادی مزانشیمی، یک منبع سلولی جذاب برای ترمیم بافت عصبی به‌شمار می‌رond که علت آن، خودتجددی‌پذیری آنها، سرعت رشد زیاد و خصوصیات مختلف چند کارکردی می‌باشد (۳)؛ همچنین مشخص شده است که کاشت سلول‌های بنیادی مزانشیم استخراج شده از مغز استخوان، تأثیر مفیدی بر روی ترمیم عصب محیطی دارند (۴)؛ با این وجود، جداسازی آنها، روشی دردناک و غیر رفاهی بوده و فراوانی سلول‌ها در مغز استخوان نسبتاً کم است (۵). بنابراین یافتن یک منبع سلولی دیگر بسیار ضروری است (۶). سلول‌های بنیادی استخراج شده از چربی، پروفایل‌های فنتیپی مشابهی با سلول‌های مزانشیم مغز استخوان دارند (۷). اما مزایای منحصر به فرد آنها عبارتند از:

این سلول‌ها را می‌توان از طریق فرایند لیپوساکشن، از بافت زیرپوست به‌آسانی برداشت کرد (۸)؛ فراوانی سلول‌ها در بافت چربی بیشتر از مغز استخوان است و سریعتر تکثیر می‌شوند (۹، ۱۰)؛ فاکتور رشد عصبی (NGF)، یک عامل اختصاصی برای زنده‌ماندن نورون‌ها می‌باشد (۱۱)؛ ترمیم نورون‌های حرکتی را تسريع می‌نماید (۱۲) و سبب افزایش تعداد آکسون‌های میلین‌دار و بلوغ بیشتر لایه‌های اندوتیال می‌گردد (۱۳).

هدف از این تحقیق، بررسی تأثیر تزریق نوروتروفین NGF و ADSCs بر ترمیم عصب سیاتیک لهشده توسط آزمون‌های رفتاری، شاخص عمل عصب سیاتیک و

الکتروفیزیولوژی بود.

روش تحقیق

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر، بر روی ۲۸ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار، به وزن تقریبی ۳۰۰-۲۰۰ گرم انجام شد. رت‌ها در مرکز حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... تحت شرایط طبیعی شامل: چرخه ۱۲ ساعت روشناختی و تاریکی، دمای ۲۳-۲۵ درجه سانتی‌گراد و آب و غذای کافی نگهداری شدند.

آماده‌سازی حیوان

بیهوشی موش‌ها توسط مخلوطی از کتامین به مقدار ۹۰ mg/Kg و گزیلازین (زاپلازین) به مقدار ۱۰ mg/Kg به صورت داخل صفاقی صورت گرفت و پس از آن، موی پای حیوان تراشیده شد و پوست خلفی خارجی ران، توسط بتادین و الكل استریل شد.

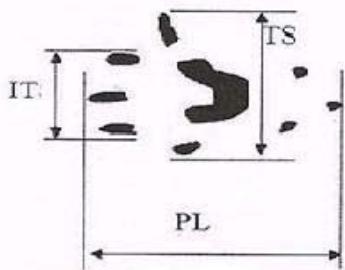
آسیب عصب سیاتیک

در پوست خلفی خارجی ران، یک برش طولی به اندازه ۳ سانتی‌متر ایجاد شد. عضلات پشت ران کنار زده شد و عصب سیاتیک نمایان گردید. عصب، توسط پنس هوموستاتیک متوسط جراحی، در دو جهت عمود بر یکدیگر و به مدت ۱۰ ثانیه له شد.

استخراج سلول

چربی، از حفره لگنی حیوان برداشته شد و پس از خردشدن، با ۴۰۸ کلائزناز و ۲ میلی‌لیتر محیط کشت α MEM مخلوط گردید و به مدت ۳۰ تا ۱۵ دقیقه به هم زده شد تا زمانی که یک محلول کاملاً شیری‌رنگ به دست آمد. محلول، از فیلتر مش ۷۰ عبور داده شد و سپس ۲ بار به مدت ۴ دقیقه و با دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد. محلول رویی، دور ریخته شد و ترکیب باقیمانده، با محیط کشت مخلوط گردید و در یک پلیت، داخل انکوباتور قرار گرفت. تا ۳ روز، محیط رویی، توسط سمپلر کشیده شد و محیط کشت جدید اضافه

برای هر حیوان ۳ بار، به طور جداگانه و به فاصله ۱۰ دقیقه انجام گرفت.



شکل ۱- نمایش کف پای رت

ب- بررسی حرکتی: ارزیابی شاخص عملکرد عصب سیاتیک

بررسی حرکتی، در پایان هفته ۲، ۴ و ۶ بعد از عمل جراحی انجام شد؛ بدین صورت که کف پای آسیب دیده حیوان، با جوهر رنگی شد و حیوان در یک راهرو به ابعاد $60 \times 7 \times 20$ سانتی متر که کف آن کاغذ سفیدی قرار داده شد بود، راه می رفت؛ سپس SFI، بر اساس فرمول زیر برای پای جراحی شده و پای سالم محاسبه گردید (۱۴).

$$SFI = -38.5 \left(\frac{EPL - NPL}{NPL} \right) + 109.5 \left(\frac{ETS - NTS}{NTS} \right) + 13.3 \left(\frac{EIT - NIT}{NIT} \right) - 8.8$$

در معادله فوق، «PL» طول کف پا، «TS» فاصله بین سر انگشتان ۱ و ۵، «IT» فاصله بین سرانگشتان ۲ و ۴، «E-Experimental» سمت آزمایش، «N-normal» سمت سالم (تمام اندازه ها بر حسب میلی متر) می باشند.

اگر مقدار SFI، $-10 < 0 < +10$ باشد، علامت طبیعی بودن حرکت پا می باشد و اعداد -100 الی $+100$ بهبودی حرکتی را نشان می دهد و مقدار -100 یا کمتر، نشان می دهد که فعالیت حرکتی به طور کامل از بین رفته است (۱۵). این روش، پر کاربرد ترین روش برای ارزیابی کارکردی ترمیم عصب در موش است (۱۶).

ج- بررسی الکتروفیزیولوژی

این بررسی، توسط دستگاه ثبت الکترومیوگرافی برای ثبت دامنه پتانسیل فعالیت حرکتی (AMP) و سرعت هدایت پیام عصبی (NCV) انجام شد. موش ها در پایان هفته ششم،

شد تا سلول ها به کف پلیت چسبیدند. بعد از دو پاساژ، سلول ها برای پیوند آماده شدند.

گروه بندی

موش ها به طور تصادفی در ۴ ($n=7$) گروه قرار گرفتند:

۱- گروه سالم بدون آسیب؛

۲- گروه شاهد که عصب سیاتیک موش ها دچار آسیب گردید؛

۳- گروه NGF که عصب سیاتیک موش ها دچار آسیب شد و سپس مقدار ۹ میکرولیتر NGF در محل آسیب تزریق گردید؛

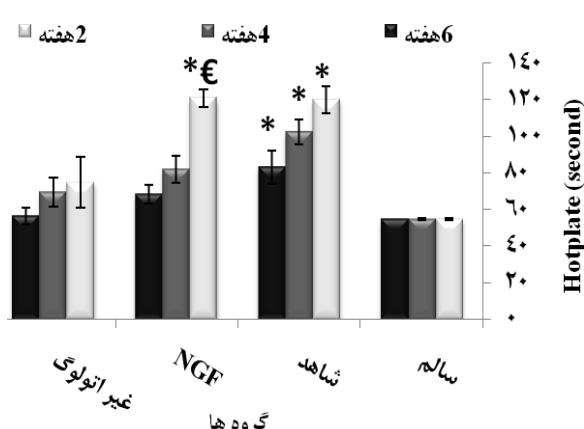
۴- گروه سلولی غیراتولوگ (Non-Atuo) که عصب سیاتیک موش ها دچار آسیب شد و سپس در محل آسیب، مقدار ۱۵۰۰۰ سلول بنیادی مزانشیمی همراه با مقدار ۹ میکرولیتر NGF تزریق گردید.

تزریق سلول و NGF

سلول ها توسط آنژیم تریپسین، از پلیت جدا شد و مقدار ۱۵۰۰۰ سلول و ۹ میکرولیتر NGF، با استفاده از سرنگ همیلتون، به محل له شده عصب تزریق گردید. تزریق به مدت ۹ دقیقه و در ۳ ناحیه محل آسیب، یک میلی متری دیستال و پروگزیمال محل آسیب صورت گرفت.

بررسی های رفتاری

الف- بررسی حسی: ارزیابی حسی عصب سیاتیک ارزیابی عملکرد حسی عصب سیاتیک، توسط آزمون رفتاری Hot Plate انجام شد که روشی برای سنجش حس حرارت است. این آزمون، در پایان هفته ۲، ۴ و ۶ و توسط دستگاه Heater (شرکت پارس آزمایشگاه، ایران) که دارای تنظیم درجه حرارت بود، انجام شد. دما در ۴۸ درجه سانتی گراد ثابت گردید؛ موش روی صفحه قرار گرفت و مدت زمانی که طول کشید تا حیوان پای آسیب دیده خود را از سطح بلند کند، به عنوان زمان پاسخ در نظر گرفته شد. این عمل،



نمودار ۱- مقایسه زمان تأخیر در پاسخ عقب‌کشیدن پای خلفی با استفاده از Hot plate در گروه‌های مختلف در پایان هفته‌های ۲، ۴ و ۶ پس از ترمیم. *: اختلاف معنی دار با گروه نرمال یا طبیعی. € اختلاف معنی دار با گروه پیوند غیراتولوگ.

بیهوش شدن و الکترود تحریک در زیر عصب سیاتیک آنها قرار گرفت که دو الکترود کفه‌ای، یکی روی قوزک خارجی تیبیا و دیگری روی عضله گاستروکنیمیوس قرار گرفت.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها، توسط نرم‌افزار SPSS (ویرایش ۱۸) انجام شد و نتایج به دست‌آمده، به صورت میانگین و خطای انحراف از میانگین (Mean±SEM) نمایش داده شد. در بررسی داده‌ها، از آزمون کروسکال-والیس برای مقایسه میانگین بین گروه‌ها استفاده گردید. سطح معنی‌داری P<0.05 در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

بررسی حسی

آزمون حرکتی یا SFI
با له کردن عصب، حیوانات قادر به راه‌رفتن بر روی کف پای آسیب‌دیده نبودند که با گذشت زمان، کم کم بهبودی حاصل شد. با توجه به تصویر ۲، در پایان هفته ششم نسبت به هفته‌های ۲ و ۴، روند بهبودی بهتر است و این میزان در گروه سلول درمانی غیر اتولوگ نسبت به سایر گروه‌ها سریع‌تر می‌باشد. از لحاظ آماری، اختلاف معنی دار بین گروه‌های آزمایشی مشاهده نشد (جدول ۱). همان‌طور که جدول نشان می‌دهد، روند بهبودی در گروه سلول درمانی نسبت به سایر گروه‌ها بیشتر است.

جدول ۱- ارزیابی شاخص عملکرد حرکتی عصب سیاتیک در پایان هفته‌های ۲، ۴ و ۶ بعد از ترمیم در گروه‌های مورد آزمایش (آزمون حرکتی یا SFI)

میانگین تأخیر پاسخ حسی در پایان هفته‌های ۲، ۴ و ۶ در گروه شاهد ($P=0.34$, $P=0.32$, $P=0.28$)، در پایان هفته ۲ و ۴ در گروه‌های NGF ($P=0.25$) و SLO ($P=0.24$) و سلول درمانی غیر اتولوگ ($P=0.05$ و $P=0.46$)، به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه سالم بود. میزان بهبود درک حس در پایان هفته‌های ۴ و ۶ در گروه سلول درمانی غیر اتولوگ ($P=0.34$), افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشت. با توجه به نمودار یک، با گذشت زمان ۲ هفته، میزان درک حس حرارت در گروه سلول درمانی قابل تشخیص است که اختلاف معنی‌داری با گروه NGF دارد و با گذشت زمان بیشتر در ۴ و ۶ هفته بعد از ترمیم، در همه گروه‌ها نسبت به گروه سالم، بهبودی مشاهده می‌شود که این اختلاف دیگر معنی‌دار نیست. این بهبودی در گروه سلول درمانی غیر اتولوگ بیشتر مشهود بوده و در پایان هفته ۶ خیلی نزدیک به نرمال می‌باشد.

زمان	گروه‌ها	همان	جهارم	ششم
شاهد	-۹/۵±۶/۸۷	-۲۵/۰±۷/۶۲	-۷۴/۹±۲/۲۳	
NGF	-۶/۷±۵/۹۷	-۱۷/۳±۹/۹۷	-۶۰/۴±۶/۰۱	
سلول درمانی	-۹/۵±۱/۹۲	-۳۳/۵±۲/۱۷	-۵۷/۱±۵/۲۵	

همان طور که جدول ۲ نشان می‌دهد، بهبودی قابل ملاحظه‌ای در گروه‌های درمانی نسبت به گروه شاهد مشاهده می‌شود اما این میزان معنی‌دار نبود.

جدول ۲- مقایسه شاخص‌های دامنه پتانسیل فعالیت حرکتی (AMP) و سرعت هدایت عصب حرکتی (NCV) در گروه‌های تحت مطالعه.

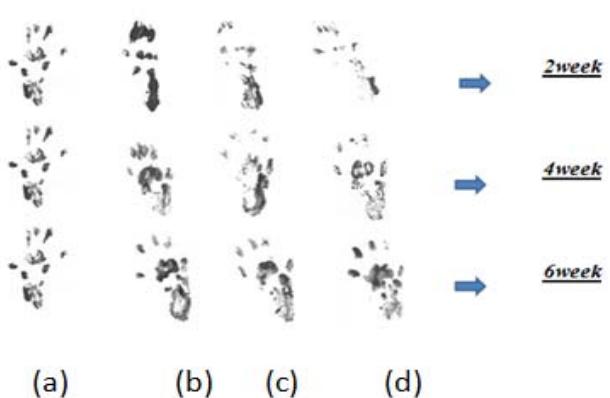
NCV (m/s)	AMP (mv)	متغیرها	
		گروه‌ها	
۵۴/۷±۲/۵۶	۳۳/۳±۰/۵۸	سالم	
۲۷/۸±۴/۲۲*	۱۷/۲±۲/۶*	شاهد	
۳۳/۶±۶/۴۹	۲۱/۷±۴/۲۵	NGF	
۳۵/۴±۲/۹۴	۲۶/۰±۲/۵	None Autologus	

* نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار با گروه سالم ($P=0.001$).

بحث

پیوند سلولی، به عنوان یک رویکرد درمانی جدید برای نقایص عصب محیطی شناخته می‌شود. سلول‌های پیوندی ایده‌آل باید به آسانی قابل دسترس بوده؛ در کشت تکثیر شده و با تحمل ایمونولوژیکی، در بافت میزان ادغام شوند (۱۷). سلول‌های بنیادی استخراج شده از چربی را می‌توان با روش لیپوساکشن، از چربی زیر پوست به آسانی جدا نمود؛ به علاوه این سلول‌ها را می‌توان به مدت بیشتری در کشت توسعه داد و سریعاً تکثیر نمود (۱۸). پیوند سلولی، موجب رشد و تحریک بازسازی رگ‌های خونی و جوانه‌های عصبی می‌شود (۱۹). این پیوند، باعث بهبود عملکرد نورون‌های حسی و حرکتی می‌شود که این تأثیرات، به دلیل توانایی تولید فاکتورهای رشد مانند NGF می‌باشد (۲۰).

NGF، فاکتور اختصاصی برای زنده‌ماندن نورون‌ها می‌باشد (۱۱). NGF، سبب افزایش ترمیم اعصاب محیطی و رگ‌زایی می‌شود (۱۳). در مطالعه حاضر، مشاهده شد که کاشت ADSC‌ها، می‌تواند ترمیم نقایص عصبی را ارتقا بخشد. یکی از مزایای این پیوند، بهبود راه رفتن است که تحلیل اثر پا، آن را نشان می‌دهد. شاخص کارکرد عصب



تصویر ۲- تصویر پاهای آسیب‌دیده موش‌های گروه‌های مختلف مورد آزمایش، هنگام راه رفتن در پایان هفته‌های ۲، ۴ و ۶ پس از ترمیم، برای ارزیابی شاخص عملکرد حرکتی عصب سیاتیک یا (a) گروه سالم، (b) گروه شاهد، (c) گروه NGF و (d) گروه سلولی غیر اتو لوگ.

همانطور که تصویر نشان می‌دهد، در پایان هفته ۶ نحوه قرارگرفتن پنجه پا در گروه‌های سلول درمانی نسبت به گروه سالم بهبود یافته است.

الکتروفیزیولوژی

از تمام گروه‌ها در پایان هفته ۶ آزمون الکتروفیزیولوژی به عمل آمد که میانگین NCV در عصب سیاتیک سالم، $۵۴/۷\pm۲/۵۶$ متر بر ثانیه و میانگین AMP $۳۳/۳\pm۰/۵۸$ میلیولت بود. میانگین NCV در گروه سالم نسبت به گروه شاهد، از افزایش معنی‌داری برخوردار بود ($P=0.006$)؛ در حالی که این میزان نسبت به گروه NGF ($P=0.09$) و سلول درمانی غیر اتو لوگ ($P=0.12$)، اختلاف معنی‌داری نداشت. میانگین AMP در گروه شاهد نسبت به گروه سالم، کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P=0.14$) اما این مقدار در گروه‌های NGF ($P=0.82$) و سلول درمانی غیر اتو لوگ ($P=0.16$)، هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری نداشت. در پایان شش هفته، میزان NCV و AMP در گروه‌های درمانی به خصوص گروه سلول درمانی غیر اتو لوگ، نسبت به گروه شاهد بهبودی قابل ملاحظه‌ای داشت اما این میزان معنی‌دار نبود.

پیوند سلولی ملاحظه نشد؛ بنابراین بهبود کامل عملکرد نخاع، نیاز به درمان بسیار پیچیده‌تر و ترکیب روش‌های مختلف به جای تزریق از نوع تک‌سلولی دارد (۲۵). این یافته‌ها، حاکی از آنند که ADSC‌ها، پتانسیل زیادی برای ارتقای ترمیم عصب پیرامونی دارند. البته قابل ذکر است که ما تأثیرات کاشت ADSC‌ها را برای ترمیم عصب محیطی، تنها در شش هفته پس از پیوند مورد بررسی قرار دادیم که این یکی از محدودیت‌های این تحقیق است. تحقیقات چندجانبه و طولانی‌تری نیاز است تا بررسی شود که ADSC‌ها، تا چه مدت می‌توانند ترمیم عصب را پشتیبانی کنند و در چه زمانی این سلول‌ها، بهترین تأثیرات خود را نشان می‌دهند. تحقیق حاضر نشان داد که NGF، ترمیم عصب محیطی را در موش ارتقا می‌بخشند.

نتیجه‌گیری

بر اساس مطالعه حاضر، می‌توان نتیجه گرفت که پیوند سلول، سبب ترمیم عصب سیاتیک لهشده می‌شود؛ همچنین NGF، موجب تسريع در بهبود عصب می‌شود که با مطالعه الکتروفیزیولوژی بهدست آمد و بهبود راه‌رفتن (SFI) نیز، آن را نشان داد.

تقدیر و تشکر

این مطالعه، با مساعدت مرکز علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی بقیه ... به انجام رسید که بدین‌وسیله تشکر و قدردانی می‌شود.

سیاتیک، به‌منظور بررسی میزان بهبودی عملی عصب سیاتیک، از سوی de Medinaceli و همکاران مطرح شد و بعدها توسط Bain و همکاران به کار گرفته شد (۲۱، ۱۶). در مطالعه حاضر، مقدار SFI در گروه شاهد، ۲ هفته پس از جراحی $74/9 \pm 2/23$ ، ۴ هفته پس از جراحی $5/5 \pm 6/87$ شد و در گروه‌های درمان شده با سلول و NGF، مقدار SFI در پایان هفته دوم پس از ضایعه به ترتیب: $57/1 \pm 5/25$ و $6/7 \pm 5/97$ بود که نشان‌دهنده بهبودی و تسريع ترمیم ضایعه گروه‌های درمانی نسبت به گروه شاهد می‌باشد. همان‌طور که ملاحظه شد، ۶ هفته پس از آسیب، شاخص عملکردی از اندام آسیب‌دیده تحت درمان با سلول نسبت به گروه کنترل و NGF بیشتر بود.

مطالعات آزمون تأثیرات ADSC‌ها که به فنوتیپ سلول‌های شوان متمایز شد، در سال ۲۰۱۰ توسط Di summa و همکاران گزارش شده است (۲۲). Shi و همکاران، از ADSC‌ها نه تنها در آسیب عصب محیطی، بلکه در آسیب‌های سیستم عصبی مرکزی نیز استفاده کردند (۲۳). Ray و همکاران در سال ۲۰۰۹، از ADSC‌ها برای درمان آسیب‌های نخاعی حاد و بهبود در عملکرد عصبی استفاده کردند. آنها همچنین از ADSC‌ها برای تمایز به آستروسیت‌ها، الیگومندروسیت‌ها و سلول‌های عصبی استفاده کردند (۲۴). اما در این مطالعه اظهار داشتند که بهبود عملکرد، با وجود بهبود قابل توجه بافتی در محل آسیب، با

منابع:

- 1- Jaquet JB. Median and Ulnar Nerve Injuries: Prognosis and Predictors for Clinical Outcome [dissertation]. [Rotterdam]: Erasmus University Rotterdam; 2004. 180p.
2. Smith Smith D, Tweed C, Fernyhough P, Glazner GW. Nuclear factor-kappaB activation in axons and Schwann cells in experimental sciatic nerve injury and its role in modulating axon regeneration: studies with etanercept. J Neuropathol Exp Neurol. 2009; 68(6): 691-700.
- 3- Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science. 1999; 284(5411): 143-7.

- 4- Cuevas P, Carceller F, Dujovny M, Garcia-Gómez I, Cuevas B, González-Corrochano R, et al. Peripheral nerve regeneration by bone marrow stromal cells. *Neurol Res.* 2002; 24(7): 634-8.
- 5- Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng.* 2001; 7(2): 211-28.
- 6- Lee TH, Yoon JG. Intracerebral transplantation of human adipose tissue stromal cells after middle cerebral artery occlusion in rats. *J Clin Neurosci.* 2008; 15(8): 907-12.
- 7- De Ugarte DA, Morizono K, Elbarbary A, Alfonso Z, Zuk PA, Zhu M, et al. Comparison of multi-lineage cells from human adipose tissue and bone marrow. *Cells Tissues Organs.* 2003; 174(3): 101-9.
- 8- Gimble JM, Katz AJ, Bunnell BA. Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. *Circ Res.* 2007; 100(9): 1249-60.
- 9- Yoshimura H, Muneta T, Nimura A, Yokoyama A, Koga H, Sekiya I. Comparison of rat mesenchymal stem cells derived from bone marrow, synovium, periosteum, adipose tissue, and muscle. *Cell Tissue Res.* 2007; 327(3): 449-62.
- 10- Liao D, Gong P, Li X, Tan Z, Yuan Q. Co-culture with Schwann cells is an effective way for adipose-derived stem cells neural transdifferentiation. *Arch Med Sci.* 2010; 6(2): 145-51.
- 11- Rabinovsky ED, Draghia-Akli R. Insulin-like growth factor I plasmid therapy promotes in vivo angiogenesis. *Mol Ther.* 2004; 9(1): 46-55.
- 12- Thoenen H, Bandtlow C, Heumann R, Lindholm D, Meyer M, Rohrer H. Nerve growth factor: Cellular localization and regulation of synthesis. *Cell Mol Neurobiol.* 1988; 8(1): 35-40.
- 13- Ernfors P, Henschchen A, Olson L, Persson H. Expression of nerve growth factor receptor mRNA is developmentally regulated and increased after axotomy in rat spinal cord motoneurons. *Neuron.* 1989; 2(6): 1605-13.
- 14- Bloom W, Fawcett DW. A Textbook of Histology. 12th ed. New York: Chapman & Hall; 1994.
- 15- Amoh Y, Li L, Campillo R, Kawahara K, Katsuoka K, Penman S, et al. Implanted hair follicle stem cells form Schwann cells that support repair of severed peripheral nerves. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005; 102(49): 17734-8.
- 16- de Medinaceli L, Freed WJ, Wyatt RJ. An index of the functional condition of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. *Exp Neurol.* 1982; 77(3): 634-43.
- 17- Tohill M, Terenghi G. Stem-cell plasticity and therapy for injuries of the peripheral nervous system. *Biotechnol Appl Biochem.* 2004; 40(Pt 1): 17-24.
- 18- Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizuno H, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell.* 2002; 13(12): 4279-95.
- 19- Cai L, Johnstone BH, Cook TG, Tan J, Fishbein MC, Chen PS, et al. IFATS collection: Human adipose tissue-derived stem cells induce angiogenesis and nerve sprouting following myocardial infarction, in conjunction with potent preservation of cardiac function. *Stem Cells.* 2009; 27(1): 230-7.
- 20- Wei X, Du Z, Zhao L, Feng D, Wei G, He Y, et al. IFATS collection: The conditioned media of adipose stromal cells protect against hypoxia-ischemia-induced brain damage in neonatal rats. *Stem Cells.* 2009; 27(2): 478-88.
- 21- Bain JR, Mackinnon SE, Hunter DA. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast Reconstr Surg.* 1989; 83(1): 129-38.
- 22- di Summa PG, Kingham PJ, Raffoul W, Wiberg M, Terenghi G, Kalbermatten DF. Adipose-derived stem cells enhance peripheral nerve regeneration. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2010; 63(9): 1544-52.
- 23- Zhang HT, Cheng HY, Cai YQ, Ma X, Liu WP, Yan ZJ, et al. Comparison of adult neurospheres derived from different origins for treatment of rat spinal cord injury. *Neurosci Lett.* 2009; 458(3): 116-121.
- 24- Ryu HH, Lim JH, Byeon YE, Park JR, Seo MS, Lee YW, et al. Functional recovery and neural differentiation after transplantation of allogeneic adipose-derived stem cells in a canine model of acute spinal cord injury. *J Vet Sci.* 2009; 10(4): 273-84.

- 25- Ohta Y, Takenaga M, Tokura Y, Hamaguchi A, Matsumoto T, Kano K, et al. Mature adipocyte-derived cells, dedifferentiated fat cells (DFAT), promoted functional recovery from spinal cord injury-induced motor dysfunction in rats. *Cell Transplant.* 2008; 17(8): 877-86.

*Abstract**Original Article*

Effect of non-autologous adipose-derived stem cells transplantation and nerve growth factor on the repair of crushed sciatic nerve in rats

Azadeh Tajik¹, Mahnaz Azarnia², Gholamreza Kaka³, Seyed Homayoon Sadraie⁴, Amid Khatiby Aghda⁵

Background and Aim: Application of stem cells derived from adipose tissue is very easy. The present study evaluated the effect of transplantation of non-autologous of adipose derived stem cell (ADSc) and nerve growth factor (NGF) in repairing of crushed sciatic nerve in rats by examining their behavior and electrophysiology.

Materials and Methods: Twenty-eight adult male rats were used in this study. The animals were randomly divided into four equal groups: (healthy rats), as control (sciatic nerve crushed rats), (sciatic nerve crushed rats treated with NGF), and (sciatic nerve crushed rats treated by means of transplantation of non-autologous of ADSc). Then, the improvement of sensory function and sciatic nerve index (SFI) of the groups were assessed.

Results: Time of recovery of sensory parameters after two weeks treatment with NGF significantly decreased when compared to the control group ($P<0.01$), while the cell therapy group showed significant improvement. At the end of the sixth week, mean of SFI in cell therapy and NGF groups increased compared to the control group but the differences were not significant. Mean NCV and AMP also showed a non-significant increase in the cell therapy group compared to the control group.

Conclusion: Transplantation of non-autologous of adipose-derived stem cells (ASDC) is an appropriate therapeutic approach in repairing of neurological injuries and NGF has a positive effect in crushed sciatic nerve regeneration.

Key Words: Adipose-derived stem cell (ADSc), Nerve growth factor (NGF), Nerve Repair

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2014; 20 (4): 357-365.

Received: May 8, 2013

Accepted: December 30, 2013

¹ MSc Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran.

² Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran.

³ Corresponding Author, Assisted Professor, Neuroscience Research Center of Baqiyatallah university of Medical Sciences, Tehran, Iran gh_kaka@yahoo.com

⁴ Associate Professor, Neuroscience Research Center of Baqiyatallah university of Medical Sciences, Tehran, Iran.

⁵ Assisted Professor, Department of Physical Medicine and Rehabilitation, Baqiyatallah university of Medical Sciences, Tehran, Iran.